PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING OF A CHANGE

(PCT Rule 92bis.1 and Administrative Instructions, Section 422)

To:

MEYERS, Hans-Wilhelm
Postfach 10 22 41
50462 Köln
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year)
23 April 2002 (23.04.02)

Applicant's or agent's file reference
002253woMegn

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/EP00/10462

International filing date (day/month/year)
24 October 2000 (24.10.00)

1. The following indications appeared on record concerning:

[X] the applicant [ ] the inventor [ ] the agent [ ] the common representative

Name and Address

State of Nationality | State of Residence

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

[ ] the person [ ] the name [ ] the address [ ] the nationality [ ] the residence

Name and Address

PHARIS BIOTEC GMBH
Karl-Wiechert-Allee 76
30625 Hannover
Germany

State of Nationality: DE | State of Residence: DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

The person indicated in Box No. 2 has been added as applicant for all designated contracting states except US. FORSSMANN, Wolf-Georg has been recorded as inventor/applicant for the US only.

4. A copy of this notification has been sent to:

[X] the receiving Office
[ ] the International Searching Authority
[ ] the International Preliminary Examining Authority
[ ] the designated Offices concerned
[X] the elected Offices concerned
[ ] other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Elisabeth KÖNIG

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	**WEITERES VORGEHEN**	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
002253woMe/gn		
Internationales Aktenzeichen	Internationales Anmeldedatum *(Tag/Monat/Jahr)*	Prioritätsdatum *(Tag/Monat/Tag)*
PCT/EP00/10462	24/10/2000	26/10/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK A61K38/22		
Anmelder FORSSMANN, Wolf-Georg et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.

2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

   ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

   Diese Anlagen umfassen insgesamt 1 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

   - I ☒ Grundlage des Berichts
   - II ☐ Priorität
   - III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
   - IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
   - V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
   - VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
   - VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
   - VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags	Datum der Fertigstellung dieses Berichts
21/04/2001	16.11.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde: Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Peris Antoli, B Tel. Nr. +49 89 2399 8476

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/10462

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-3 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1,2 eingegangen am 06/11/2001 mit Schreiben vom 05/11/2001

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

   (Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen;sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

   ☐ die gesamte internationale Anmeldung.

   ☒ Ansprüche Nr. 1-2 (gewerbliche Anwendbarkeit).

Begründung:

☒ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 1-2 (gewerbliche Anwendbarkeit) beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
siehe Beiblatt

☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):

☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.

☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

   ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

   ☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-2
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-2
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-2 (siehe Beiblatt)
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

Zu Punkt III

Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Die Ansprüche 1-2 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

Zu Punkt V

Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

2. Es wird auf das folgende Dokument verwiesen:

   D1: WO-A-88 06596

3. Die Ansprüche 1 und 2 erfüllen die Erfordernisse der Art. 33(2) und 33(3) PCT, weil ihr Gegenstand gegenüber den im Recherchenbericht zitierten Stand der Technik als neu und erfinderisch anzusehen ist (siehe unten).

3.1 **Neuheit:**

Keines der im Recherchenbericht zitierten Dokumente offenbart die Verwendung von Urodilatin bei chronisch niereninsuffizienten Patienten

(a) zur Verbesserung der Nierenrestfunktion vor der Dialysepflicht und/oder zur Verlängerung der dialysefreien Intervalle; oder

(b) zur Verbesserung der Ausscheidung von Flüssigkeit und harnpflichtigen Substanzen in die Bauchhöhle der Patienten, durch Zugabe von Urodilatin zum Peritonealdialysat dieser Patienten.

3.2 **Erfinderische Tätigkeit:**

D1, das als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart (siehe z.B. Anspruch 14) die Verwendung von Urodilatin zur Behandlung verschiedener Krankheiten. Neben anderen, wird die Behandlung von akuter bzw. chronischer

Niereninsuffizienz genannt.

Dem Gegenstand der vorliegenden Ansprüche 2-3 liegen folgende Erkenntnisse zugrunde:

(a) Urodilatin verbessert die Nierenrestfunktion von chronisch niereninsuffizienten Patienten im Vorstadium der Dialyse. Dies führt zur einer Herauszögerung der Dialysepflicht.

(b) Urodilatin verlängert die dialysefreie Intervalle bei dialysepflichtigen Patienten. Somit kann die Häufigkeit der Dialyse reduziert werden.

(c) Die Ausscheidung von Flüssigkeit und harnpflichtigen Substanzen in die Bauchhöhle von peritonealdialyse Patienten, kann durch Zugabe von Urodilatin zum Peritonealdialysat verstärkt werden.

Die vorgenannte Erkenntnisse werden durch D1 keineswegs nahegelegt.

5. Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 1 und 2 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

Patentansprüche

1. Verwendung von Urodilatin zur Verbesserung von Nierenrestfunktionen bei chronisch niereninsuffizienten Patienten vor der Dialysepflicht und/oder zur Verlängerung der dialysefreien Intervalle bei chronisch niereninsuffizienten Patienten.

2. Verwendung von Urodilatin zur Verbesserung der Ausscheidung von Flüssigkeit und harnpflichtigen Substanzen in die Bauchhöhle bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz indem Urodilatin zum Peritonealdialysat dieser Patienten zugefügt wird.

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)

To:

MEYERS, Hans-Wilhelm
Postfach 10 22 41
50462 Köln
ALLEMAGNE

AvK | Sg | W | Da | Hi | HPJ | MK | TW | JH | KB

17. AUG. 2001

K F ... /26 02 00

Date of mailing (day/month/year) 08 August 2001 (08.08.01)		
Applicant's or agent's file reference 002253woMegn	**IMPORTANT INFORMATION**	
International application No. PCT/EP00/10462	**International filing date** (day/month/year) 24 October 2000 (24.10.00)	**Priority date** (day/month/year) 26 October 1999 (26.10.99)
Applicant FORSSMANN, Wolf-Georg et al		

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

   EP :AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE
   National :JP,US

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

   None

3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" **before the expiration of 30 months from the priority date** before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing , if prescribed, a translation of the international application (Article 39(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 36(3)(b) and Rule 74.1).

   Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

   The entry into the European regional phase is postponed **until 31 months from the priority date** for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

0.12.18
-7.08.01

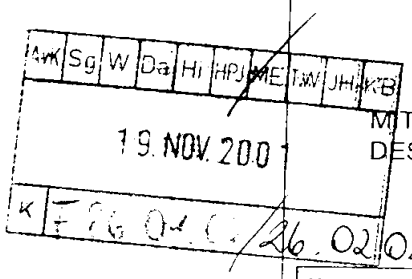
The International Bureau of WIPO **34, chemin des Colombettes** **1211 Geneva 20, Switzerland**	Authorized officer: Juan Cruz
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

MEYERS, Hans-Wilhelm
Postfach 10 22 41
D-50462 Köln
ALLEMAGNE



PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN PRÜFUNGSBERICHTS
(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum *(Tag/Monat/Jahr)*	16.11.2001
Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts: 002253woMe/gn	**WICHTIGE MITTEILUNG**

Internationales Aktenzeichen	Internationales Anmeldedatum *(Tag/Monat/Jahr)*	Prioritätsdatum *(Tag/Monat/Jahr)*
PCT/EP00/10462	24/10/2000	26/10/1999

Anmelder: FORSSMANN, Wolf-Georg et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.

2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.

3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amts wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

4. **ERINNERUNG**

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Hundt, D Tel. +49 89 2399-8042

Formblatt PCT/IPEA/416 (Juli 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ernational Application No
PCT/EP 00/10462

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K38/22 A61P13/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
BIOSIS, EPO-Internal, MEDLINE, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 88 06596 A (BISSENDORF PEPTIDE GMBH) 7 September 1988 (1988-09-07) page 24 -page 32 ---	1-3
Y	SEEMAN T ET AL: "Urinary excretion of urodilatin in healthy children and children with renal disease." PEDIATRIC NEPHROLOGY, vol. 12, no. 1, January 1998 (1998-01), pages 55-59, XP000993239 ISSN: 0931-041X the whole document --- -/--	1-3

[X] Further documents are listed in the continuation of box C

[X] Patent family members are listed in annex

* Special categories of cited documents

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
2 May 2001	11/05/2001

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl Fax (+31-70) 340-3016	Moreau, J

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ernational Application No
PCT/EP 00/10462

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MEYER M. ET AL.: "URODILATIN, A NATRIURETIC PEPTIDE WITH CLINICAL IMPLICATIONS" EUROPEAN JOURNAL OF MEDICAL RESEARCH, vol. 3, February 1998 (1998-02), pages 103-110, XP000993049 the whole document	1-3
A	US 5 691 310 A (VESELY D.L.) 25 November 1997 (1997-11-25) the whole document	1-3

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 00/10462

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8806596 A	07-09-1988	DE 3706731 A	15-09-1988
		DE 3717329 A	15-12-1988
		AT 85345 T	15-02-1993
		AU 614738 B	12-09-1991
		AU 1348188 A	26-09-1988
		DE 3878231 A	18-03-1993
		DE 3878231 D	18-03-1993
		DE 3878231 T	27-05-1993
		DK 610888 A	02-11-1988
		EP 0349545 A	10-01-1990
		JP 2502636 T	23-08-1990
		JP 2819467 B	30-10-1998
		US 5449751 A	12-09-1995
		US 5665861 A	09-09-1997
US 5691310 A	25-11-1997	NONE	

AW | Sg | W | Da | Hi | Wz | A | KB

18. DEZ. 2000

K | F | 01/26.04.01

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION CONCERNING SUBMISSION OR TRANSMITTAL OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

MEYERS, Hans-Wilhelm
Postfach 10 22 41
50462 Köln
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 08 December 2000 (08.12.00)	
Applicant's or agent's file reference 002253woMegn	**IMPORTANT NOTIFICATION**
International application No. PCT/EP00/10462	International filing date (day/month/year) 24 October 2000 (24.10.00)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 26 October 1999 (26.10.99)
Applicant FORSSMANN, Wolf-Georg et al	

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).

2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.

3. An **asterisk(*)** appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

4. The **letters "NR"** appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, **the attention of the applicant is directed** to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
26 Octo 1999 (26.10.99)	199 51 471.2	DE	04 Dece 2000 (04.12.00)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Peggy Steunenberg

Telephone No. (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark Office, PCT
2011 South Clark Place Room CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 08 August 2001 (08.08.01)	
International application No. PCT/EP00/10462	**Applicant's or agent's file reference** 002253woMegn
International filing date (day/month/year) 24 October 2000 (24.10.00)	**Priority date** (day/month/year) 26 October 1999 (26.10.99)
Applicant FORSSMANN, Wolf-Georg et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

[X] in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

21 April 2001 (21.04.01)

[ ] in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election [X] was

[ ] was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Juan Cruz

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

WO 01/30376
PCT/EP00/10462

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:
MEYERS, Hans-Wilhelm
Postfach 10 22 41
50462 Köln
ALLEMAGNE

11. MAI 2001

Date of mailing (day/month/year) 03 May 2001 (03.05.01)		
Applicant's or agent's file reference 002253woMegn	**IMPORTANT NOTICE**	
International application No. PCT/EP00/10462	**International filing date** (day/month/year) 24 October 2000 (24.10.00)	**Priority date** (day/month/year) 26 October 1999 (26.10.99)
Applicant FORSSMANN, Wolf-Georg et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
   US

   In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
   EP,JP

   The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
   03 May 2001 (03.05.01) under No. WO 01/30376

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, **a demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer
J. Zahra

Telephone No. (41-22) 338.83.38

10/088498

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

3

Applicant's or agent's file reference 002253woMegn	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT IPEA 416)	
International application No. PCT/EP00/10462	International filing date (*day month year*) 24 October 2000 (24.10.00)	Priority date (*day month year*) 26 October 1999 (26.10.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 38/22.		
Applicant PHARIS BIOTEC GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 1 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand	Date of completion of this report
21 April 2001 (21.04.01)	16 November 2001 (16.11.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP00/10462

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*)

☒ the international application as originally filed.

☒ the description, pages 1-3, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____

☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. 1,2, filed with the letter of 05 November 2001 (05.11.2001),
Nos. _____, filed with the letter of _____

☐ the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages _____
☐ the claims, Nos. _____
☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

Supplemental Box
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: **BOX III**

Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. Claims 1-2 concern a subject matter which, in the opinion of the Examining Authority, falls under PCT Rule 67.1(iv). Consequently, no opinion is formed on the industrial applicability of the subject matter of these claims (PCT Article 34(4)(a)(i)).

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-2	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-2	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-2 (see Box III)	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

2. This report makes reference to the following document:

D1: WO-A-88/06596.

3. Claims 1 and 2 meet the requirements of PCT Article 33(2) and (3) because their subject matter can be considered novel and inventive in relation to the prior art cited in the search report.

3.1 **Novelty:**

None of the documents cited in the search report discloses the use of urodilatin for patients suffering from chronic renal insufficiency

(a) in order to improve residual kidney function before dialysis becomes necessary and/or for lengthening dialysis-free intervals; or

(b) in order to improve the elimination into the patient's peritoneum of liquid and substances which are normally eliminated into the urine, by admixture of urodilatin to the peritoneal dialysate of these patients.

3.2 **Inventive step:**

D1, which is considered the closest prior art,

discloses (see e.g. Claim 14) the use of urodilatin for treating various diseases. The treatment of acute or chronic renal insufficiency is named, among others.

The subject matter of the present Claims 2-3 is based on the following observations:

(a) urodilatin improves residual kidney function of patients suffering from chronic renal insufficiency before the dialysis stage. This postpones the moment when dialysis becomes necessary.

(b) urodilatin lengthens the dialysis-free interval in dialysis patients. Dialysis frequency can thus be reduced.

(c) the admixture of urodilatin to the peritoneal dialysate can increase elimination of liquid and substances which are normally eliminated into the urine into the peritoneum of peritoneal dialysis patients.

D1 does not suggest the above-mentioned observations.

5. In the PCT Contracting States, there are no uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claims 1 and 2 in their present form. Patentability can also depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the use of a compound in a medical treatment; it does, however, allow claims to the first use of a known compound in a medical treatment or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical treatment.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	**WEITERES VORGEHEN**	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
002253woMegn		
Internationales Aktenzeichen	Internationales Anmeldedatum *(Tag/Monat/Jahr)*	(Frühestes) Prioritätsdatum *(Tag/Monat/Jahr)*
PCT/EP 00/ 10462	24/10/2000	26/10/1999
Anmelder		
FORSSMANN, Wolf-Georg		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

[X] Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. **Grundlage des Berichts**

   a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

   [ ] Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

   b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid– und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

   [ ] in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.

   [ ] zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

   [ ] bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

   [ ] bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

   [ ] Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

   [ ] Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. [X] **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3. [ ] **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

   [X] wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

   [ ] wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

   [X] wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

   [ ] wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. --

   [ ] wie vom Anmelder vorgeschlagen

   [ ] keine der Abb.

   [ ] weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

   [ ] weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
[redacted]EP 00/10462

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K38/22 A61P13/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
BIOSIS, EPO-Internal, MEDLINE, EMBASE, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	WO 88 06596 A (BISSENDORF PEPTIDE GMBH) 7. September 1988 (1988-09-07) Seite 24 -Seite 32 ---	1-3
Y	SEEMAN T ET AL: "Urinary excretion of urodilatin in healthy children and children with renal disease." PEDIATRIC NEPHROLOGY, Bd. 12, Nr. 1, Januar 1998 (1998-01), Seiten 55-59, XP000993239 ISSN: 0931-041X das ganze Dokument --- -/--	1-3

[X] Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

[X] Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
2. Mai 2001	11/05/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Moreau, J

2

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
[redacted]EP 00/10462

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGE[redacted]ENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	MEYER M. ET AL.: "URODILATIN, A NATRIURETIC PEPTIDE WITH CLINICAL IMPLICATIONS" EUROPEAN JOURNAL OF MEDICAL RESEARCH, Bd. 3, Februar 1998 (1998-02), Seiten 103-110, XP000993049 das ganze Dokument ---	1-3
A	US 5 691 310 A (VESELY D.L.) 25. November 1997 (1997-11-25) das ganze Dokument -----	1-3

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
P[redacted]/EP 00/10462

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8806596 A	07-09-1988	DE 3706731 A	15-09-1988
		DE 3717329 A	15-12-1988
		AT 85345 T	15-02-1993
		AU 614738 B	12-09-1991
		AU 1348188 A	26-09-1988
		DE 3878231 A	18-03-1993
		DE 3878231 D	18-03-1993
		DE 3878231 T	27-05-1993
		DK 610888 A	02-11-1988
		EP 0349545 A	10-01-1990
		JP 2502636 T	23-08-1990
		JP 2819467 B	30-10-1998
		US 5449751 A	12-09-1995
		US 5665861 A	09-09-1997
US 5691310 A	25-11-1997	NONE	

Pediatr Nephrol (1998) 12: 55–59

Pediatric Nephrology

Original article

Urinary excretion of urodilatin in healthy children and children with renal disease

T. Seeman[1], M. Meyer[2], C. P. Schmitt[1], T. Remer[3], W.-G. Forssmann[2], and K. Schürer[1]

[1] Division of Pediatric Nephrology, University Children's Hospital, Im Neuenheimer Feld 150, D-69120 Heidelberg, Germany
[2] Lower Saxony Institute for Peptide Research, D-30625 Hannover, Germany
[3] Research Institute for Child Nutrition, D-44225 Dortmund, Germany

Received December 4, 1996; received in revised form and accepted June 13, 1997

Abstract. Urodilatin (URO) is a natriuretic peptide isolated from human urine which is thought to be produced by distal tubular cells. We measured urinary URO excretion in 50 healthy children and 23 children with acute (ARF), chronic renal failure (CRF), or hereditary tubular disorders, using a specific radioimmunoassay. The mean URO excreted in these four groups was 56, 45, 94, and 121 fmol/min per 1.73 m^2, respectively (differences between first three groups not significant). The variation in URO excretion was larger in patients with kidney disease than in controls. There were significant correlations between urinary URO and sodium excretion in controls and CRF, but not in ARF. URO excretion also correlated with urine flow rate in CRF. Although no correlation was found between URO excretion and creatinine clearance, urinary URO was increased in some patients with advanced CRF, which suggests stimulated tubular production to compensate for reduced sodium excretion. In view of the therapeutic potential of URO in renal insufficiency, further study of the renal handling of URO is warranted.

Key words: Urodilatin – Acute renal failure – Chronic renal failure – Congential tubulopathies – Sodium excretion

Introduction

Urodilatin (CDD/ANP-95-126, URO) is a natriuretic peptide of the A-type which was isolated from human urine [1]. It has 4 additional N-terminal amino acids compared with the circulating atrial natriuretic peptide (CDD/ANP-99-126, ANP). URO has not been detected in blood by current analytical methods, unlike ANP [2]. To measure URO in urine, a specific radioimmunoassay (RIA) with no cross-reaction with ANP was developed [3].

URO is thought to be synthesized in distal tubular cells and cleaved here from its precursor, a product of a common single gene for URO and ANP [2, 4, 5]. It is secreted in the distal tubular lumen and acts in a paracrine fashion on luminal receptors of collecting duct cells, in which it inhibits water and sodium (Na) resorption [4]. URO excretion (UROe) is closely related to Na excretion and urine flow rate (UFR) [5, 6]. Intravenous URO infusion results in natriuresis and diuresis, which is modulated by Na balance and is more effective than an equimolar infusion of ANP [6, 7]. The diuretic and vasodilating effects of URO have been used successfully to prevent or revert incipient renal failure experimentally [8, 9], and in humans after liver transplantation [10] or cardiac surgery [10–12], without appreciable side effects. Recently, URO was also applied for treatment of acute renal failure (ARF) in an infant following bone marrow transplantation [13]. The aim of this study was to clarify the relationships between UROe, urinary excretion of Na ($U_{Na}V$), and UFR in children with impaired renal function compared with healthy control children.

Patients and methods

Patients. We investigated 6 children with ARF, 13 children with chronic renal failure (CRF), and 4 children with hereditary tubular disorders. Clinical data are summarized in Table 1. UROe, $U_{Na}V$, and UFR in these patients were compared with those of 50 healthy controls (26 boys) whose age (3–14 years) was equally distributed. Controls were participants in the Dortmund Longitudinal Study on Nutrition, Metabolism, Growth, and Development. Four ARF patients and 1 child with CRF were treated by peritoneal ($n = 1$) or hemodialysis ($n = 4$). Six children were given furosemide and 4 antihypertensive drugs. Most patients with CRF received vitamin D, calcitriol, calcium carbonate, electrolyte supplements, and/or polyvitamins; 6 were treated with erythropoietin and 3 with growth hormone. Patients with tubular disorders received vitamin D and electrolyte substitutions. To evaluate the influence of UFR on UROe, urine was collected from 7 young healthy adults immediately before and for 4 h after a water load (20 ml/kg body weight).

Urine collection. For control children 24-h urine collections were carried out at home. After micturation each specimen was immediately frozen and stored below –20 °C until analysis. From most patients with renal diseases, single spontaneously voided urine samples were ob-

Correspondence to: K. Schärer

Table 1. Clinical data of 23 patients with renal disease and number of urine samples studied

Group	Patient no.	Age (years)/ sex	Mean creatinine clearance (ml/min per 1.73 m²)	Primary renal disease	Urine samples analyzed for URO (2)	Treatment: diuretics/ dialysis
Acute renal failure	1	0.1/M	(oligoanuria)	RVT	4	+/+
	2	6.7/M	1.0	Unknown	5	+/+
	3	1.2/M	4.7	HUS	7	+/+
	4	13.1/M	5.2	RPGN	3	+/+
	5	13.1/M	18.8	AIN	7	-/-
	6	5.3/F	54.3	HUS	4	+/-
Chronic renal failure	7	0.8/F	0.2	HYPO	3	+/-
	8	0.9/M	7.5	HYPO	5	-/-
	9	6.7/M	9.2	VUR	7	-/-
	10	13.2/M	10.8	VUR	5	-/-
	11	6.7/M	11.1	OUP	9	-/+
	12	7.6/M	15.1	OUP	2	-/-
	13	14.7/M	20 (C_{in} 17)	OUP	3	-/-
	14	14.7/M	19.0	FSGS	7	-/-
	15	11.6/M	27.0	OUP	3	-/-
	16	9.7/M	46.1	VUR	7	-/-
	17	15.1/F	82 (C_{in} 51)	WEG	1	-/-
	18	11.3/F	86 (C_{in} 47)	HYPO	5	-/-
	19	9.1/M	96 (C_{in} 58)	HUS	2	-/-
Tubular disorders	20	9.2/F	62 (C_{in} 73)	CYS	6	-/-
	21	6.0/M	88.0	Bartter syndr.	7	-/-
	22	7.8/M	92.0	CYS	4	-/-
	23	17.2/M	124 (C_{in} 85)	Fanconi syndr.	10	-/-

M, male; F, female; AIN, acute interstitial nephritis; CYS, cystinosis; FSGS, focal segmental glomerulosclerosis; HUS, hemolytic-uremic syndrome; HYPO, renal hypoplasia; OUP, obstructive uropathy; RPGN, rapidly progressive glomerulonephritis; RVT, renal vein thrombosis; VUR, vesicoureteric reflux; WEG, Wegeners granulomatosis; C_{in}, inulin clearance; URO, urodilatin

Table 2. Urinary excretion (24-h) of URO (UROe) and sodium ($U_{Na}V$) and urine flow rate (UFR) in 50 healthy children*

	Boys (n = 26)	Girls (n = 24)	Boys + Girls
UROe (fmol/min per 1.73 m²)	63.4 ±6.0	47.0 ±4.5	55.6 ±4.0
$U_{Na}V$ (μmol/min per 1.73 m²)	112.1 ±9.3	79.6 ±6.7	96.5 ±6.2
UFR (ml/min per 1.73 m²)	0.83 ± 0.05	0.71 ± 0.07	0.78 ± 0.3
Creatinine excretion (μmol/min per 1.73 m²)	5.10 ± 0.91	6.00 ± 1.68	5.55 ± 1.41

* Mean values ± SEM

tained. The collection periods varied between 15 and 600 min. For analysis the urine specimens were combined to cover collection periods ranging between 6 and 72 h. The number of combined urine samples examined per patient is indicated in Table 1 (median 5 samples). In 2 children where urine was obtained by bladder catheterization the collection periods lasted 6 h. After collection, aliquots of urine were immediately frozen at −20 °C prior to assay.

Blood samples in children with CRF and tubular disorders were usually obtained in the early morning at the start of urinary sampling. In ARF patients, 1 or more additional blood samples were usually taken per day. Serum creatinine (SCr) and Na concentrations were measured by routine methods.

Urinary URO was measured by a specific RIA which does not cross-react with other ANP analogues [3]. The assay measures the intact molecule and does not measure breakdown products. Urinary Na and Cr were measured by an autoanalyzer (Hitachi 736). UROe was related to $U_{Na}V$, UFR, and glomerular filtration rate (GFR) determined by Cr clearance (C_{Cr}) which was calculated from each urine sample separately.

Statistical analysis was performed using Student's t-test unpaired observations. Correlations were calculated according to Pearson.

Results

The mean UROe of 50 healthy children was 55.6 ± 3.9 fmol/min per 1.73 m² (± SEM) with only minor variations according to age. Boys excreted more URO than girls (P < 0.02) (Table 2). Children with renal disease showed much larger variations of UROe than healthy individuals. In ARF, mean UROe was 45.1 ± 13.6 fmol/min per 1.73 m², in CRF 94.4 ± 21.1, and in hereditary tubular

Table 3. Correlations between UROe (fmol/min per 1.73 m²) and $U_{Na}V$ (μmol/min per 1.73 m²), UFR (ml/min per 1.73 m² and creatinine clearance (C_{Cr}) (ml/min per 1.73 m²) in normal children and children with renal disease[a]

	Normal (n = 50)		Acute renal failure (n = 31)		Chronic renal failure (n = 50)		Hereditary tubular disorders (n = 27)	
	r	P	r	P	r	P	r	P
UROe vs.								
$U_{Na}V$	0.42	0.002	−0.11	NS	0.28	0.044	−0.32	NS
UFR	−0.07	NS	−0.04	NS	0.29	0.036	−0.10	NS
C_{Cr}			0.04	NS	−0.11	NS	0.07	NS

n, Number of urine samples; r, correlation coefficient; NS, not significant

[a] One patient with chronic renal failure treated by dialysis is excluded from the calculations

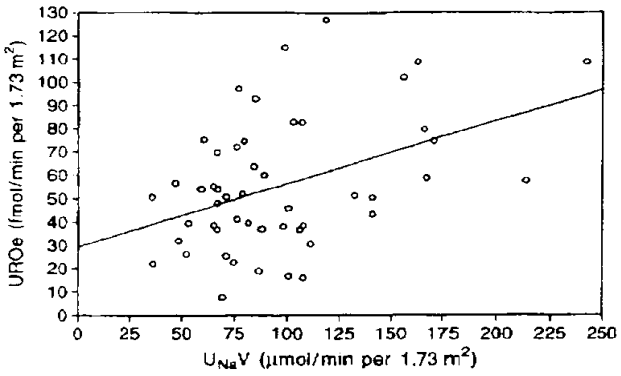


Fig. 1. Relationship between urodilatin excretion ($UROe$) and sodium excretion ($U_{Na}V$) in 50 healthy children aged 3–14 years; r = 0.42, P = 0.002

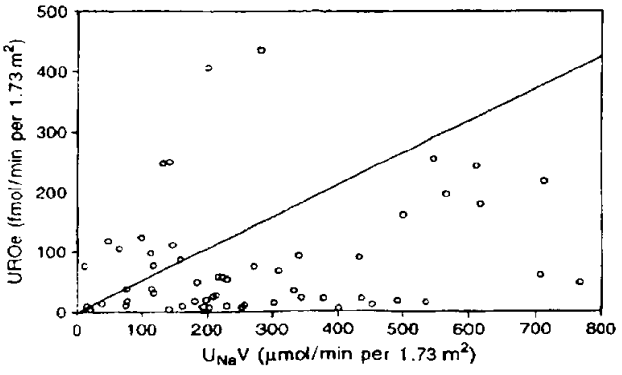


Fig. 2. Relationship between UROe and $U_{Na}V$ in 13 children with chronic renal failure (59 determinations); r = 0.25, P = 0.048

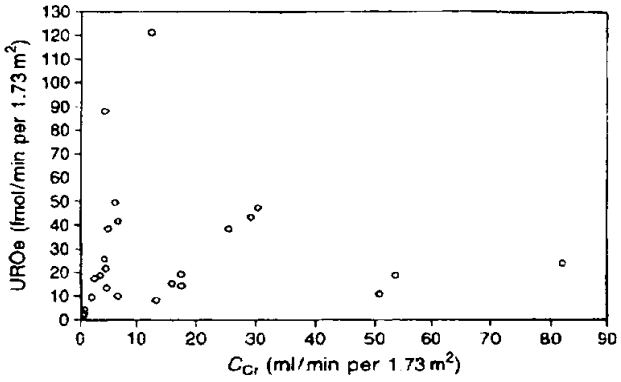


Fig. 3. Relationship between UROe and creatinine clearance (C_{Cr}) in 6 children with acute renal failure (27 determinations)

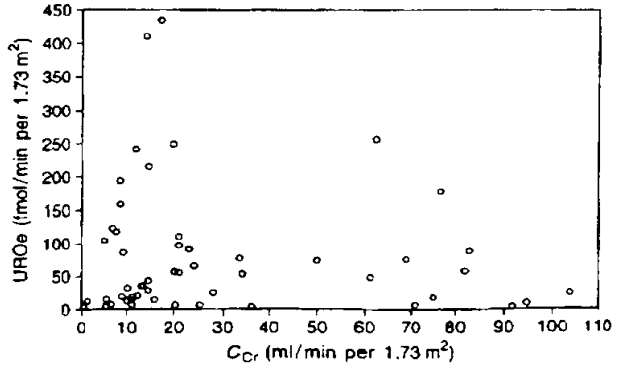


Fig. 4. Relationship between UROe and C_{Cr} in 13 children with chronic renal failure (58 determinations)

disorders 120.7±41.1 fmol/min per 1.73 m². The differences between UROe in ARF, CRF, and controls were not significant. The children with hereditary tubular disorders excreted significantly more URO than controls, mainly due to 1 child with Bartter syndrome who showed the highest excretion (995 fmol/min per 1.73 m²).

A significant linear correlation was found in healthy children between UROe and $U_{Na}V$ (Table 3, Fig. 1), which was less in CRF (Fig. 2) and absent in ARF. UFR correlated with UROe only in CRF, but not in ARF or in healthy children. No correlation was found between C_{Cr} and UROe in any of the three groups of renal patients (Figs. 3 and 4). The mean quotient UROe/C_{Cr} was significantly higher when C_{Cr} was below 10 ml/min per 1.73 m² (n = 29) than in

Table 4. Effect of water load on urine osmolality (Uosm), UFR, URO concentration (UROc) and excretion (UROe) in 7 healthy volunteers[a]

Urine sample	Uosm (mmol/kg)	UFR (ml/min per 1.73 m²)	UROc (fmol/ml)	UROc (fmol/min per 1.73 m²)
Before load	684[*1] ±73	1.49[*1] ±0.4	8.07[*4] ±2.45	12.54[*4] ±5.7
0–2 h after load	125[*1, *2] ±13	8.21[*1, *3] ±0.7	37.38[*4] ±11.7	295.0[*5, *6] ±105.0
2–4 h after load	392[*2] ±66	2.70[*3] ±0.6	2.30[*4] ±0.38	9.81[*6] ±4.06

[*1] $P = 0.001$; [*2] $P = 0.01$; [*3] $P = 0.007$; [*4] $P = 0.03$; [*5] $P = 0.04$; [*6] $P = 0.05$

[a] Mean values ±SD

patients with C_{Cr} above this value ($n = 59$): 9.6±1.4 versus 3.3±1.0 ($P = 0.001$).

One patient with bilateral nephrostoma had repeated measurements from both kidneys which confirmed the higher mean UROe/C_{Cr} quotient in the kidney with the lower GFR, although the difference was not significant: 10.0±0.1 in the right kidney (GFR 0.6–1.4 ml/min per 1.73 m²) versus 6.6±4.1 in the left kidney (GFR 8.0–14.4 ml/min per 1.73 m²).

In 7 healthy adult volunteers who received an oral water load, mean UROc rose by a factor of 23 in the first 2 h, accompanied by a fivefold increase in UFR and a fivefold decrease in urine osmolality (Table 4). In the 2 h following water loading, UROe fell to a similar mean value as before the test, although UFR and urine osmolality remained high.

Discussion

The presence of URO in the urine of normal subjects and in patients with CRF has earlier been suspected from studies of different molecular forms of ANP [14]. Later investigations applying the same specific RIA in urine as in our study were restricted to healthy humans [5, 15, 16]. There are no reports on UROe in patients with renal disease.

This study demonstrates that URO is excreted in healthy children as well as in children with ARF and CRF, with no significant differences between the mean excretion in these three groups when related to body surface area, although larger individual variations were noted in renal patients. The only earlier pediatric study on urinary UROe was restricted to healthy newborns and infants, and reported three peaks of ANP RIA-reactive material, the first being in the position of URO [17].

Since URO is unstable in urine at room temperature and the clinical condition of the population studied often changed within hours, we decided to collect separate single urine samples which were frozen immediately after voiding. Earlier studies have shown that 6 h after incubation of urine at room temperature 8% of the basic immunoreactivity is lost [3]. In healthy children we used 24-h urine sampling, thereby avoiding the influence of circadian variations characterized by a lower excretion of URO and Na at night [5, 18]. It is not known whether URO is broken down in the urine during storage at body temperature.

According to our results, normal urinary excretion of URO seems to be relatively constant throughout childhood from the age of 3 to 14 years, when related to body surface area, similar to the excretion of endothelin, another vasoactive peptide [19, 20]. It is remarkable that we found a small, though significant sex difference in UROe. The lower UROe in healthy girls is possibly due to the lower Na excretion compared with boys (Table 2).

As expected from adult studies under different Na loads and after water immersion [6, 16], UROe was significantly related to Na excretion in normal children. This is in contrast to the findings of Bauer et al. [17] who failed to find such a relationship in a small group of infants. We also observed a significant correlation between UROc and $U_{Na}V$ excretion in non-dialyzed CRF children, although to a lesser degree than in healthy children. Such a relationship was not present in ARF, where most patients were treated by dialysis. An important role for URO in maintaining Na homeostasis has recently been supported by the strong natriuretic response to URO infused intravenously in healthy volunteers [6]. It was hypothesized that this effect might be the result of a downregulation of natriuretic peptide C receptors [21].

In some patients with ARF and CRF, relatively large amounts of URO were found in urine in the presence of low natriuresis. A similar phenomenon was observed in normal individuals in the state of weightlessness when UROe was high, despite low natriuresis [22]. The variable increase in tubular URO production to counteract the reduced $U_{Na}V$ associated with reduced GFR could explain why the corresponding correlation was low in CRF and missing in ARF. It is possible that an efficient compensatory rise of URO production preferentially occurs after prolonged renal dysfunction, such as in CRF or in hereditary tubular disorders. It is notable that in our patients with severe reduction of GFR, UROe showed a bimodal distribution with both undetectable and elevated values in many patients, which can not be explained by corresponding changes in $U_{Na}V$ nor by different primary renal diseases. In contrast to $U_{Na}V$, UFR was not related to UROe, except in children with CRF. This finding is different from the diuretic response provoked by URO infusion [6].

Our additional data obtained in young adult volunteers after an oral water load demonstrated an immediate and marked rise in UROe, which was followed by a rapid fall to basal values, although UFR and urine osmolality recovered more slowly.

Our observations support the previous suggestion [2] that the tubular URO production plays a role in renal insufficiency, as suggested by physiological investigations [2]

and the favorable influence of URO infusions in preventing and treating ARF in man [10–13]. From other studies it may be assumed that in renal disease URO production acts in concert with other vasoactive factors produced by paracrine or endocrine mechanisms, such as ANP and endothelin [6, 20, 23]. The interaction between these different vasoactive factors in health and renal disease is yet to be defined in man.

In summary, our study shows that the urinary excretion of URO per body surface area in normal children is independent of age and not significantly different from that in children with ARF or CRF. The correlations between UROe and $U_{Na}V$ observed in healthy children and in CRF attest to a role for URO in maintaining Na homeostasis. The high URO excretion observed in some patients with severely reduced GFR reflects stimulated distal tubular UROe secretion and appears to compensate for the reduction in $U_{Na}V$. This compensatory mechanism may be less marked in ARF than in CRF. In view of the potential value of URO as a renoprotective agent maintaining urine flow and GFR in renal insufficiency, further study of the renal handling of URO in children is warranted.

Acknowledgements. F. S. and C. P. S. were supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (DRK 103-3/96). We thank Professor W. Kochen for determinations of Cr and Na and Mrs. Andrea Bender for excellent secretarial help.

References

1. Schulz-Knappe P, Forssmann K, Herbst F, Hock D, Pipkorn R, Forssmann WG (1988) Isolation and structural analysis of "urodilatin", a new peptide of the cardiodilatin-(ANP)-family, extracted from human urine. Klin Wochenschr 66: 752–759
2. Forssmann WG (1995) Urodilatin (Ularitide, INN): a renal natriuretic peptide. Nephron 69: 211–222
3. Drummer C, Fiedler F, Bub A, Kleefeld D, Dimitriades E, Gerzer R, Forssmann WG (1993) Development and application of a urodilatin-(CDD/APN-95-126) specific radioimmunoassay. Pflügers Arch 423: 372–377
4. Schulz-Knappe P, Honrath U, Forssmann WG, Sonnenberg H (1990) Endogenous natriuretic peptides: effect on collecting duct function in rat kidney. Am J Physiol 259: F415–F418
5. Drummer C, Fiedler F, König A, Gerzer R (1991) Urodilatin, a kidney-derived natriuretic factor, is excreted with a circadian rhythm and is stimulated by saline infusion in man. J Am Soc Nephrol 1: 1109–1113
6. Meyer M, Richter R, Brunkhorst R, Wrenger E, Schulz-Knappe P, Kist A, Mentz P, Brabant EG, Koch KM, Rechkemmer G, Forssmann WG (1996) Urodilatin is involved in sodium homeostasis and exerts sodium-state-dependent natriuretic and diuretic effects. Am J Physiol 271: F489–F497
7. Saxenhofer H, Raselli A, Weidmann P, Forssmann WG, Bub A, Ferrari P, Shaw SG (1990) Urodilatin, a natriuretic factor from kidneys, can modify renal and cardiovascular function in men. Am J Physiol 259: F832–F838
8. Shaw S, Weidmann P, Zimmermann A (1992) Urodilatin, not nitroprusside, combined with dopamine reverses ischemic acute renal failure. Kidney Int 42: 1153–1159
9. Schramm L, Heidbreder E, Lukes M, Weierich T, Lopan K, Zimmermann I, Wanner C (1996) Endotoxin-induced acute renal failure in the rat: effects of urodilatin and diltiazem on renal function. Clin Nephrol 46: 117–124
10. Cedidi C, Meyer M, Kuse ER, Schulz-Knappe P, Ringe B, Frei U, Pichlmayr R, Forssmann WG (1994) Urodilatin: a new approach for the treatment of therapy-resistant acute renal failure after liver transplantation. Eur J Clin Invest 24: 632–639
11. Hummel M, Kuhn M, Bub A, Bittner H, Kleefeld D, Marxen P, Schneider B, Hetzer R, Forssmann WG (1992) Urodilatin: a new peptide with beneficial effects in the postoperative therapy of cardiac transplant recipients. Clin Invest 70: 674–682
12. Wiebe K, Meyer M, Wahlers T, Zenker D, Schulze FP, Michels P, Dalichau H, Mohr FW, Borst HG, Forssmann WG (1995) Acute renal failure following cardiac surgery is reverted by administration of urodilatin. Eur J Med Res 1: 259–265
13. Laws HJ, Kropp S, Meyer M, Forssmann WG, Burdach S (1995) Treatment of acute renal failure with urodilatin after unrelated bone marrow transplantation in an 18-month-old boy. Bone Marrow Transplant 16: 307–310
14. Marumo F, Shichiri M, Emori T, Ando K (1992) Circulating and excreted forms of atrial natriuretic peptide in healthy subjects and patients with renal diseases. Clin Nephrol 38: 203–208
15. Norsk P, Drummer C, Johansen LB, Gerzer R (1993) Effect of water immersion on renal natriuretic peptide (urodilatin). J Appl Physiol 74: 2881–2885
16. Drummer C, Gerzer R, Heer M, Molz B, Bie P, Schlossberger M, Stadaeger C, Röcker L, Strollo V, Heyduck B, Bauer K, Warberg J, Baisch F, Christensen NJ, König A, Norsk P (1992) Effects of an acute saline infusion on fluid and electrolyte metabolism in humans. Am J Physiol 262: F744–F754
17. Bauer K, Solc J, Timnik A, Solcova A, Weil J (1992) Urodilatin and atrial natriuretic peptide are present in the urine of healthy neonates and young infants. Biol Neonate 62: 96–99
18. Ballauf A, Rascher W, Tölle HG, Wember T, Manz M (1991) Circadian rhythms of urine osmolality and renal excretion rates of solutes influencing water metabolism in 21 healthy children. Miner Electrolyte Metab 17: 377–382
19. Mattyus I, Zimmerhackl LB, Scherz A, Hentschel M, Brandis M, Miltenyi M, Tullassay T (1994) Renal excretion of endothelin in children is influenced by age and diuresis. Acta Paediatr 83: 468–472
20. Worgall S, Manz F, Kleschin K, Fath F, Rascher W (1994) Elevated urinary excretion of endothelin-like immunoreactivity in children with renal disease is related to urine flow. Clin Nephrol 41: 331–337
21. Michel H, Meyer-Lehnert H, Bäcker H, Stelkens H, Kramer HJ (1990) Regulation of natriuretic peptide receptors in glomeruli during chronic salt loading. Kidney Int 38: 73–79
22. Drummer C, Heer M, Dressendorfer RA, Strasburger CJ, Gerzer R (1993) Reduced natriuresis during weightlessness. Clin Invest 71: 678–686
23. Yaganisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe T, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T (1988) A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature 332: 411–415